

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

Iva Pavić

**Reproduktivni pokazatelji u uvjetima  
promjenjive razine uree u mlijeku**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

Genetika i oplemenjivanje životinja

Iva Pavić

**Reproduktivni pokazatelji u uvjetima  
promjenjive razine uree u mlijeku**

DIPLOMSKI RAD

Mentor: Izv.prof.dr. Krešimir Salajpal

Zagreb, 2016

Ovaj diplomski rad je ocijenjen i obranjen dana \_\_\_\_\_

s ocjenom \_\_\_\_\_ pred Povjerenstvom u sastavu:

1. Izv. prof.dr. Krešimir Salajpal \_\_\_\_\_

2. Doc. dr. Antun Kostelić \_\_\_\_\_

3. Doc. dr. Miljenko Konjačić \_\_\_\_\_

## SAŽETAK

Sadržaj uree u mlijeku važan je pokazatelj opskrbe krava hranjivima (bjelančevinama i energijom u obroku) te može poslužiti kao pokazatelj u procjeni metaboličkog statusa krava. Neuravnotežena opskrbljenost hranjivima, a napose bjelančevinama može negativno utjecati na zdravlje krave te može imati za posljedicu brojne reproduktivne smetnje. Stoga je cilj ovog rada prikazati na koji način promjenjiva razina uree u mlijeku utječe na reproduktivne pokazatelje u visokomliječnim krava.

Istraživanje je provedeno na 56 krava holštajn pasmine. U 8 kontrola mliječnosti analizirano je ukupno 343 uzoraka mlijeka u kojima su analizirani sljedeći pokazatelji: dnevna količina mlijeka, mliječna mast, proteini, laktoza, broj somatskih stanica i koncentracija uree u mlijeku. Podaci o reproduktivnim pokazateljima za svaku pojedinu životinju preuzeti su iz evidencija same farme u koju se dnevno unose svi podaci vezani za reprodukciju i liječenje krava. Temeljem reproduktivnih pokazatelja krave su svrstane u četiri skupine: slobodne - krave nakon teljenja do prvog osjemenjivanja, osjemenjene – krave nakon osjemenjivanja ali kod kojih nije još potvrđen graviditet, bređe – krave kod kojih je potvrđen graviditet, zasušene – krave u suhostaju.

Analizirajući sadržaj uree u mlijeku kao i ostalih sastojaka mlijeka u ovom istraživanju može se uočiti značajna varijabilnost između pojedinih kontrola odnosno tijekom jedne proizvodne godine. Navedeno je posljedica korištenja sezonskih krmiva u većim količinama koja su često bogata lako topivim ili neproteinskim izvorima dušika koji se u prisustvu manjka energije izlučuje u obliku uree iz organizma. Utvrđene razine uree u mlijeku nisu značajno odstupale od normalnih vrijednosti za krave (15-30 mg/100 ml), izuzevši prvu kontrolu u kojoj su izmjerene vrijednosti daleko iznad gornje granice (44,8 mg/100 ml). Raspodjela krava u skupinama s obzirom na reproduktivnu fazu (slobodne, osjemenjene, bređe i zasušene) pokazuje značajna odstupanja od očekivane raspodjele. Visoki udjeli krava u skupinama slobodnih i osjemenjenih ukazuju na dugo zadržavanje krava u ovoj reproduktivnoj fazi odnosno produljeno vrijeme do pojave prvog vidljivog estrusa ili oplodnje. Nadalje, može se uočiti da trend kretanja udjela slobodnih i osjemenjenih krava (jalove) donekle prati trend kretanja razine uree u mlijeku.

## **ABSTRACT**

The milk urea content is a significant indicator of cows' nutrients' supply (proteins and energy intake) and serves as an evaluation factor of metabolic status of dairy cows. Unbalanced nutrients' diet, especially in proteins supply, can negatively influence cows' health and result in numerous reproductive difficulties. Therefore, the aim of this paper is to present the way by which a variable level of milk urea content influences reproductive indicators in high-producing dairy cows,

The research was conducted on 56 Holstein cows. In the course of 8 controls, the total of 343 milk samples were analyzed according to the following indices: daily milk production, percentage of fat, protein and lactose content, the somatic cell counts and the milk urea content. Data on reproductive indicators for every single animal were gathered from farm records. These records contain daily data on cows' reproduction and treatment. Based on reproductive indicators, cows were divided into four groups: fresh cow - cows after calving to first insemination, inseminated – cows after insemination without confirmed pregnancy, pregnant – cows with determined pregnancy, dry cows – cows in dry period.

The milk urea content as well as other milk ingredients observed in this investigation shown on significant variability between certain controls, i.e. during single production year. The stated data are consequences of usage of greater quantities of seasonal forages that are often rich in easily dissolved or non-protein nitrogen, which is excreted in form of urea from the cow due to lack of energy. Established milk urea levels did not significantly deviate from normal values for cows (15-30 mg/100 ml), with the exception of the first control when the observed results significantly exceeded the upper level (44.8 mg/100 ml). The grouping of cows according to reproductive phases (fresh, inseminated, pregnant and dry) show significant deviation from the expected distribution. The high percentage of fresh and inseminated cows indicate long retention of cows in this reproductive phase, that is caused by long period till the first visible estrus or conception. Additionally, trend to relationship between milk urea content and percentage of fresh and inseminated cows is evident.

## **SADRŽAJ**

<b>1. UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2. PREGLED LITERATURE</b>	<b>2</b>
2.1. Reproktivne karakteristike krava	2
2.1.1. Plodnost krava	3
2.2. Reproktivni poremećaji krava	5
2.3. Sastav mlijeka	7
2.3.1. Značaj uree za reprodukciju krava	7
2.3.2. Put nastanka uree u mlijeku i krvi	8
2.3.3. Procjena metaboličkog statusa krava	9
2.3.4. Koncentracije uree i bjelančevina u mlijeku	10
2.4. Povezanost uree u krvi i mlijeku s reproductivnim poremećajima	13
2.4.1. Utjecaj uree na plodnost	14
2.4.2. Utjecaj uree na pH maternice	14
2.4.3. Utjecaj uree na ravnotežu hormona	15
2.4.4. Utjecaj uree na koncepciju	15
2.4.5. Utjecaj uree na razvoj embrija	16
<b>3. MATERIJALI I METODE</b>	<b>17</b>
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b>	<b>18</b>
4.1. Analiza vrijednosti pokazatelja mlijeka po kontrolama	18
4.2. Analiza vrijednosti uree s obzirom na reproductivni status krava	24
<b>5. ZAKLJUČAK</b>	<b>30</b>
<b>6. POPIS LITERATURE</b>	<b>31</b>

## 1. UVOD

Visoka proizvodnja mlijeka od velike je ekonomske važnosti za farmere, stoga je cilj većine proizvođača održati visoku mliječnost uz zadržavanje kvalitete mlijeka kako bi postigli što bolji financijski rezultat. Kao osnovu svake proizvodnje mlijeka važno je navesti reprodukciju krava, stoga je potrebno poznavati pokazatelje koji na nju utječu. Od trenutka kada je jedinka spolno zrela, odnosno njenim ulaskom u estrus, započinje ciklus proizvodnje koji je pod utjecajem velikog broja čimbenika. Važni pokazatelji plodnosti kao što su međutelidbeno razdoblje, vrijeme do prvog osjemenjivanja nakon teljenja, servisno razdoblje, indeks osjemenjivanja te teljenja pomažu nam pri vrednovanju plodnosti. Za vrednovanje plodnosti također je važno pratiti redovitost spolnog ciklusa, izraženost simptoma tjeranja te učestalost ovarijalnih cista, abortusa te mrtvorodne teladi. Kao važne reproduktivne pokazatelje stanja reproduktivnog sustava mogu se navesti i brojni reproduktivni poremećaji čija pojava utječe na plodnost jedinke.

Ako dođe do pojave patoloških promjena važno je utvrditi uzrok nastalih promjena. Naime, reproduktivni poremećaji mogu biti posljedica loše izbalansiranog obroka koji izravno ili neizravno može utjecati na zdravlje životinje. Neizbalansirani obrok može se povezati sa smetnjama u funkciji jajnika gdje se kao posljedica slabije funkcije jajnika javljaju ciste na jajnicima te smetnje u ovulaciji. Hranidba viškom razgradivih proteina u odnosu na sadržaj energije može biti povezana s reproduktivnim poremećajima, a kao indikator uzroka navedenih poremećaja (neizbalansiran obrok) javljaju se visoke koncentracije uree u krvi i mlijeku. Stoga je cilj ovog rada prikazati na koji način promjenjiva razina uree u mlijeku utječe na reproduktivne pokazatelje u visokomliječnim krava.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. REPRODUKTIVNE KARAKTERISTIKE KRAVA

Reprodukcija goveda je osnovica proizvodnje mlijeka i mesa te je vrlo važno da ona bude redovita. Pubertet kod junica javlja se u dobi od 8-18 mjeseci kada je u potpunosti razvijena funkcija hipofize i jajnika no potpunu tjelesnu i spolnu zrelosti dostižu u dobi od 12-24 mjeseci. Spolno zrele jedinke trebale bi dostići prosječnu veličinu svoje pasmine kako bi fizički bile spremne za teljenje bez poteškoća (Rupić, 2010), odnosno osjemenjuju se kada im je minimalna težina 60% tjelesne mase odrasle krave. Kod Holstein goveda ta masa iznosi 390kg. Ulaskom u spolnu zrelost započinje spolni ciklus koji obuhvaća razdoblje od estrusa do pojave novog estrusa odnosno tjeranja. Trajanje spolnog ciklusa je prosječno 21 dan, no smatra se normalnim trajanje u razdoblju od 18 do 25 dana (Caput, 1996). Spolni ciklus može se podijeliti u 4 razdoblja (Rupić, 2010).

Proestrus podrazumijeva kraće razdoblje prije pojave samog estrusa u kojem dolazi do regresije žutog tijela čime se smanjuje koncentracije progesterona, a povećava lučenje gonadotropnog releasing hormona (GnRH). GnRH stimulira izlučivanje foliklostimulirajućeg (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH) čime započinje rast novih folikula, njihovo sazrijevanje i posljedično povećano lučenje estrogena. Oticanje vulve te lučenje sluzi iz cervikalnog kanala, vanjski su znaci ulaska krave u ovo razdoblje.

Estrus se nadovezuje na proestrus te počinje kada razina estrogena u krvi dosegne najviše vrijednosti. U ovom razdoblju LH dostiže svoj maksimum te uzrokuje pucanje Graafova folikula odnosno započinje ovulacija uslijed koje razina LH opada sve do početka novog ciklusa. Djelovanjem LH dolazi do formiranja žutog tijela (*Corpus luteum*) koji počinje lučenje progesterona. Razina progesterona raste do desetak dana nakon početka estrusa te djeluje kočeći na lučenje GnRH zajedno s estrogenima. Trajanje estrusa kod krava obuhvaća razdoblje od 16-20 sati (Caput, 1996) tokom kojeg životinja pokazuje razne znakove tjeranja od razdražljivog ponašanja do cijedenja obilate sluzi iz stidnice.

Metestrus je razdoblje u kojem dolazi do stvaranja luteinskih stanica na mjestu ovuliranih Graafovih folikula te se smanjuje sekrecija sluzi a vulva više nije otečena. Kao što je navedeno, u ovom razdoblju nastaje žuto tijelo čija je uloga da štiti plod.



Diestrus je razdoblje u kojem je maternica spremna za nošenje ploda a žuto tijelo luči velike količine progesterona. U ovom razdoblju žuto tijelo je u potpunosti razvijeno te se u potpunosti smanjuje sekrecija sluzničkih žlijezda. Pojavom tihog tjeranja estrus se često ne primijeti, u tom slučaju ne dolazi do oplodnje zbog čega krajem razdoblja diestrusa opada razina progesterona te dolazi do regresije žutog tijela. Regresiju žutog tijela uzrokuje prostaglandin F2 $\alpha$  kojeg luče sluznice rogova i tijelo maternice (Rupić,2010).

#### 2.1.1. Plodnost krava

Spolno sazrijevanje krava ovisi o mnogo faktora kao što su pasmina, hranidba, sezona teljenja te tjelesna masa krave. Pasma holstein spada u kasnozrelije pasmine stoga junice ulaze u spolni ciklus s otprilike 10 mjeseci te ovisno o hranidbi mogu spolno sazreti i ranije ukoliko su obilnije hranjene. Bez obzira na spolno sazrijevanje, junice se osjemenjuju tek kada im je masa veća kako ne bi imale poteškoća pri teljenju. Spolni ciklus u junica traje 20 dana dok je kod krava on prosječno 21 dan. Zbog različitih faktora može doći do produženja spolnog ciklusa od 25 dana, a neki od uzroka su tiho tjeranje, puerperij, perzistentno žuto tijelo, nefunkcionalan ovarij ili embrionalna smrtnost (Uremović, 2004). Nakon teljenja u 20-40% krava javlja se tiho tjeranje (Caput, 1996.), ukoliko krava ne uđe u estrus 40 dana nakon teljenja te se ne tjera svaki 21. dan, može se zaključiti da se radi o „tihom tjeranju“ ili krava ima upalu maternice ili ciste na jajnicima. Redovitost spolnog ciklusa, izraženost simptoma tjeranja te učestalost ovarijalnih cista, abortusa te mrtvorodne teladi važni su pokazatelji koji nam govore o plodnosti krave pa tako i o njenom zdravlju (Caput, 1996). Za plodnost krava također postoje važni pokazatelji koji nam pomažu pri vrednovanju plodnosti te su navedeni u daljnjem tekstu.

Međutelidbeno razdoblje sastoji se od servisnog razdoblja te razdoblja gravidnosti odnosno razdoblje između dva teljenja. Optimalno trajanje međutelidbenog razdoblja je 12 do 13 mjeseci čime se postiže visoka mliječnost. Zbog intenzivne proizvodnje mlijeka često se produžuje na 14 mjeseci. Ukoliko je međutelidbeno razdoblje duže od 365 dana možemo zaključiti da je plodnost krave slabija (Uremović, 2004).

Vrijeme do prvog osjemenjivanja nakon teljenja ili vrijeme odmora obuhvaća razdoblje od 8 do 10 tjedana nakon teljenja. Prva ovulacija nakon teljenja je obično nakon 21. dana te se

često javlja tiho gonjenje zbog čega je problem otkriti prvi estrus nakon teljenja. Heritabilitet za ovo razdoblje iznosi u srednjim vrijednostima 0,037 (Caput, 1996.).

Servisno razdoblje optimalno traje od 80 do 90 dana. Servisno razdoblje obuhvaća razdoblje od teljenja do oplodnje. Srednje vrijednosti heritabiliteta za ovo razdoblje trebale bi iznositi 0,090 (Caput, 1996.). Postoje brojni razlozi produženja servisnog razdoblja koji uključuju mnoge reproduktivne poremećaje nakon teljenja koji mogu biti posljedica loše hranidbe, higijene i sl.

Indeks osjemenjivanja prikazuje broj osjemenjivanja po uspješnoj koncepciji tj. ukupan broj sjemena po kravi koja je koncipirala. Kada iznosi više od 2,0 radi se o lošem indeksu osjemenjivanja (Uremović, 2004).

Indeks teljenja prikazuje odnos između ukupnog broja teljenja krava i junica i prosječnog broja krava u stadu. Da je plodnost krave zadovoljavajuća pokazuje indeks koji iznosi između 100-105 ili više. Ako je indeks teljenja niži od 100 smanjuje se broj krava i snižava se proizvodnja mlijeka u stadu (Uremović, 2004).

Non return je rezultat koji označava udio osjemenjenih krava po biku koje unutar 60 (NR-60) ili 90 (NR-90) dana nije bilo potrebno osjemenjivati nakon prvog osjemenjivanja. (Uremović, 2004.) Ukoliko imamo bikove s niskim „non return“, potrebno ih je izbaciti iz uzgoja. Srednje vrijednosti heritabiliteta za non return trebale bi se kretati između 0,013 i 0,035 (Caput, 1996).

Gravidnost kod Holstein goveda traje otprilike 278 dana a može se zaključiti da je krava gravidna ukoliko nema znakova gonjenja, životinja se laganije i opreznije kreće, te se u kasnijoj fazi gravidnosti može uočiti asimetrija trbuha na desnoj strani. Nakon 278 dana dolazi do poroda koji se javlja u nekoliko faza. U prvoj fazi javljaju se trudovi te je krava nemirna, učestalo mokri i sl. te u drugoj fazi dolazi do poroda odnosno do istiskivanja ploda pri čemu se javljaju kontrakcije trbušnih mišića. Porod se najčešće odvija tako da je krava u ležećem položaju. Prilikom istiskivanja ploda kroz otvor izlazi vodenjak koji otvara put teletu koje je u većini slučajeva smješteno u prednjem podužnom položaju s leđima prema gore. Izlaskom kroz otvor stidnice vodenjak puca čime olakšava izlazak ploda. U trećoj fazi dolazi do istiskivanja posteljice te traje od 3 do 8 sati (Caput, 1996.). Nakon što je posteljica istisnuta, krava ulazi u stanje puerperija koji podrazumijeva vraćanje spolnih organa u početno stanje, odnosno dolazi do involucije maternice. 40 dana nakon puerperija krava ponovno ulazi u estrus.

## 2.2. REPRODUKTIVNI POREMEĆAJI KRAVA

Plodnost krava najviše ovisi o zdravlju jajnika stoga njihovo smanjenje funkcije može uzrokovati mnoge reproduktivne poremećaje kao što su izostanak tjeranja, tiho tjeranje, smanjenje plodnosti i sl. Tako primjerice do smetnje u funkciji jajnika može doći zbog nedovoljne opskrbe krave energijom radi čega je smanjenja funkcija rada jajnika, javljaju se ciste na jajnicima te smetnje u ovulaciji (Uremović, 2004). Na slabiju funkciju jajnika utječu i neki drugi faktori pa tako nedostatak određenih minerala kao što su kalij i natrij, mogu uzrokovati ciste na jajnicima, pojavu tihog gonjenja ili produljenje ovulacije. Zbog loše hranidbe može doći do mnogih reproduktivnih poremećaja kao primjerice zaostajanje posteljice što je često posljedica prehranjenosti krave tijekom suhostaja. Zaostajanje posteljice uzrokuje smanjenje mliječnosti te produljenje servisnog razdoblja. Zbog loše izbalansirane hranidbe dolazi do fizioloških poremećaja koji uzrokuju embrionalne i fetalne gubitke (Caput, 1996).

Ciste su uzročnici mnogih poremećaja vezanih uz reprodukciju pa tako mogu uzrokovati pojavu tihog tjeranja, izostanka tjeranja, embrionalnu smrt, tjeranje bez ovulacije, neplodnost i sl. Ciste se mogu javiti na jajnicima gdje se stvaraju Graafovi folikuli za ovulaciju stoga se mogu definirati kao neovulirane folikularne strukture koje traju više od 10 dana bez prisutnosti žutog tijela (Vuković, 2012). Veličina ciste obično je promjera većeg od 25mm, a kod mnogih krava smještena je na jednom ili oba jajnika. Zbog odsustva žutog tijela javlja se niska razina progesterona te se povećava koncentracija estrogena iz cističnog folikula uzrokujući tako pojavu estrusa bez ovulacije (Fricke, 2013). Ciste se također mogu formirati na žutom tijelu te utječu na sintezu progesterona uzrokujući anestrus odnosno mirovanje ženskih spolnih organa. Folikularne i lutealne ciste moguće je razlikovati na osnovu koncentracije progesterona. Stoga pojava cista s visokim razinama progesterona predstavlja lutealnu cistu dok niske razine progesterona ukazuju na folikularnu cistu (Fricke i Shaver, 2000). Na jajniku se također može javiti perzistentno žuto tijelo koje se javlja 20. dana nakon estrusa te uzrokuju povećane koncentracije progesterona zbog čega ne dolazi do ovulacije stoga se često pogrešno zaključi da je krava gravidna (Vuković, 2012). Na pojavu cista često utječe loše izbalansirana prehrana kao posljedica visoke proizvodnje mlijeka zbog koje se životinje često prehranjuje kako bi mliječnost bila veća.

Embrionalna smrtnost može uzrokovati mnoge probleme u reprodukciji životinja. Najčešće se javlja na početku gravidnosti gdje 29-39% embrija uginu između 8. i 16. dana

gravidnosti krava (Rupić, 2010). Za embrio je vrlo važan okoliš u tekućini jajovoda koja se sastoji od važnih metabolita, iona te omogućava lakši transport, oplodnju i sazrijevanje gameta (Biswajit, 2011). Svaka promjena okoliša može uzrokovati probleme, a osobito embrionalnu smrtnost. Ukoliko dođe do embrionalne smrtnosti unutar 15 dana nakon oplodnje, one neće uvjetovati produženje spolnog ciklusa. Smrtnost embrija u razdoblju nakon toga dolazi do produženja spolnog ciklusa (Rupić, 2010). Embrionalnu smrtnost može uzrokovati loše izbalansirana prehrana (Caput, 1996; Butler, 2012) upravo zbog svog utjecaja na žuto tijelo o kojem ovisi život embrija (Rupić, 2010). Embrionalna smrtnost prisutnija je kod krava koje gube na težini u odnosu na one koje dobivaju na težini kao posljedica nedostatka energije u prehrani (Fricke, 2013).

Poremećaji puerperija pod utjecajem su raznih čimbenika te mogu uzrokovati mnoge probleme koji dovode do razvoja sekundarnih infekcija, neplodnosti pa i smrti životinje. Jedan od poremećaja puerperija jest uvrtnje i izvala maternice u vlastitu šupljinu, a zatim kroz stidni otvor. Kod krava do izvale maternice može doći zbog opuštene maternice kao posljedica dugotrajnog poroda, a predispozicija je neizbalansirana prehrana. Mršave krave često kao posljedica neuhranjenosti imaju maternicu koja je labava što dovodi do ovog ovog poremećaja (Fricke i Shaver, 2000). Kao poremećaj puerperija također se javlja zaostajanje posteljice koja se javlja ukoliko posteljica ne izađe iz krave za 2-8 sata nakon poroda. U slučaju da nije došlo do istiskivanja posteljice prva dva dana nakon teljenja krave se napinju, drže se pogrbljeno i podižu rep. Ukoliko se na vrijeme ne primijeti, dolazi do porasta tjelesne temperature, gubitka apetita te se javljaju neugodni mirisi a posljedično dolazi do infekcije te može doći i do ugibanja krave (Rupić, 2010). Posljedice zaostajanja posteljice uzrokuju smanjenje mliječnosti te produljenje servisnog razdoblja (Caput, 1996). Osim raznih fizioloških uzroka, zaostajanja posteljice može biti posljedica neuravnoteženog obroka bilo da se radi o preuhranjenosti krave tokom suhostaja ili pothranjenosti krave. Neadekvatna hranidba gravidne životinje, osobito 2 mjeseca prije poroda može pogodovati pojavi puerperalne pareze. Puerperalna pareza je teški metabolički poremećaj koji se javlja u kratkom vremenskom periodu nakon teljenja, a razvoju ovog poremećaja pogoduje neadekvatna hranidba osobito hranidba većim količinama proteina u suhostaju (Rupić, 2010).

## 2.3. SASTAV MLJEKA

Sastav mlijeka se mijenja tijekom laktacije te ovisi o tome u kojem se stadiju laktacije krava nalazi. Sastojci mlijeka koji nastaju iz prekursora iz krvi obuhvaćaju masti, proteine, laktozu te ureu. Laktoza je disaharid koji je jedan od glavnih sastojaka mlijeka. Laktoza se sastoji od molekule glukoze i galaktoze koje su povezane  $\beta$ -1,4-glikozidnom vezom. Sinteza laktoze je pod kontrolom dvodijelnog enzima koji se naziva laktoza-sintetaza. Taj enzim tvore proteini UDP-galaktozil-transferaza i  $\alpha$ -laktalbumin. Za sintezu laktoze potrebne su dvije molekule glukoze, jedna od njih se pretvara se u UDP-glukozu koja se pretvara u UDP-galaktozu (Stryer, 2013). Glukoza, koja nastaje od propionske kiseline u jetri, prenosi se putem krvi, a nju unose sekrecijske stanice vimena da bi proizvele laktozu.

U sastavu mlijeka nalaze se proteini od kojih 80% čini kazein, a ostali proteini u mlijeku su laktoalbumini te laktoglobulini koji se nalaze u koncentracijama od 0,1%. Koncentracija laktoglobulina poraste u razdoblju kolostruma koji je važan za stvaranje imuniteta teleća (Caput, 1996). Proteini u mlijeku obično se kreću u koncentracijama od 3-4%. Tijekom gravidnosti, koncentracija laktoze opada te opet raste od 15. do 45. dana laktacije dok se koncentracije proteina kreće obrnuto proporcionalno te opada u tom razdoblju. Osim laktoze i proteina, u mlijeku su prisutne i masti čija količina se kreće od 3-5%. Mliječna mast je sastavljena pretežno od triglicerida te manjim dijelom od fosfolipida i kolesterola. Za mliječnu mast je karakteristično da puno nižih masnih kiselina od kojih je najviše prisutna buterna kiselina.

U mlijeku se također nalazi urea čije se normalne vrijednosti kreću od 15 do 30mg/dl (Prpić, 2005; Jankowska, 2010). Kod preživaca, količina uree u mlijeku ovisi o količini energije i proteina te odnosu unesenih razgradivih i nerazgradivih bjelančevina u buragu. Urea u mlijeku pomaže nam pri procijeni hranidbenog statusa krava odnosno govori nam mnogo o opskrbljenosti krava proteinima i energijom.

### 2.3.1. Značaj uree za reprodukciju krava

Pri ishrani krava jedno od važnijih sastavnica hrane jesu proteini. Njihova razgradnja u buragu odvija se uz pomoć mikroorganizama koji svojim anaerobnim djelovanjem koriste proteine kao izvor amonijaka koji se koristi za proizvodnju mikrobnih proteina. Razgradnja se odvija u dvije faze iz kojih kao krajnji produkti nastaju peptidi, aminokiseline te masne

kiseline,  $\text{CO}_2$  i  $\text{NH}_3$  (Grubić, 2003). Produkt probave mikroorganizama jest mikrobn protein od kojeg krave mogu podmiriti dnevnu potrebu za proteinima potrebnim za dnevnu količinu mlijeka do 20kg (Uremović, 2004). Razgradivost proteina može se podijeliti na proteine koji su razgradivi i one koji to nisu čineći tako ukupne proteine u buragu. Njihova brzina razgradnje ovisi o brzini protoka proteina kroz burag. Proteini koji se koriste za proizvodnju mikrobnih proteina u buragu jesu razgradivi proteini koje uz energiju koriste mikroorganizmi u buragu. Ukoliko je odnos energije i razgradivih proteina neujednačen, nastati će višak  $\text{NH}_3$ . Razgradivi proteini čine izvor amonijaka za sintezu mikrobnih proteina, no dio koji se ne iskoristi za sintezu odlazi u jetru gdje se pretvara u ureu (Butler, 2005). Nerazgradivi proteini su oni proteini koji u buragu ostaju nepromjenjivi te odlaze dalje u tanko crijevo gdje se razlažu na aminokiseline uz pomoć probavnih enzima. Količina uree u mlijeku ovisi o količini unesenih razgradivih i nerazgradivih bjelančevina u buragu odnosno ukoliko je razina razgradivih proteina viša u odnosu na unesenu količinu energije, koncentracije uree biti će više (Biswajit, 2011). Sadržaj proteina u obroku je važan, jer se u buragu sintetiziraju mikrobn proteini čija sinteza ovisi o količini razgradivih proteina te o količini ugljikohidrata odnosno energiji koja utječe na rast mikroorganizama (Butler, 2005). Povećane koncentracije proteina u ishrani krava utječu na povećanu proizvodnju mlijeka no može biti štetna za reprodukciju krava (Biswajit, 2011).

### 2.3.2. Put nastanka uree u mlijeku i krvi

Jedan od krajnjih produkata razgradnje proteina u probavnom sustavu jest urea čija nam koncentracija u krvi i mlijeku ukazuje koliko je kvalitetno životinja opskrbljena hranjivima. Postoje 2 izvora uree u organizmu krava. Jedan od njih je amonijak koji se nije iskoristio prilikom sinteze mikrobnih proteina (Butler, 2005). Drugi izvor uree dolazi od strane aminokiselina kao posljedica njihove deaminacije i metabolizma. Raspad proteina u buragu i tankom crijevu rezultira proizvodnjom amonijak (Mitchell, 2004). Kod krava kao i kod ostalih životinja, razgradnja proteina se odvija u buragu i u tankom crijevu gdje se oni razgrađuju u aminokiseline ili male peptide koji se potom apsorbiraju kroz crijeva i transportiraju krvlju. Denaturacija proteina odvija se već u buragu no nerazgradivi protein i mikrobn proteini izvor su aminokiselina koje se dalje deaminiraju (Butler, 2005). U području tankog crijeva, izlučuju se različiti proteolitički enzimi koje izlučuje gušterača te svojom aktivacijom supstrate prevode u slobodne aminokiseline. U području plazmatske membrane

crijevnih stanica smještena je aminopeptidaza N koja razgrađuje proteine počevši od N kraja. Slobodne aminokiseline transportiraju se u crijevne stanice te oslobađaju u krv. Iz krvi putuju do drugih tkiva. S obzirom da se aminokiseline ne mogu skladištiti, njihov višak uzrokovan povećanim unosom proteina ulazi u ciklus uree. Njihova razgradnja započinje uklanjanjem njihove  $\alpha$ -amino-skupine transaminacijom na neku  $\alpha$ -ketokiselinu. Reakciju pretvorbe aminokiselina katalizira koenzim Pirodoksal-fosfat. Iz  $\alpha$ -amino-skupine dobivamo glutamat koji oksidacijskom deaminacijom stvara  $\text{NH}_4^+$  i  $\alpha$ -ketoglutarat. Kod kopnenih kralježnjaka iz viška  $\text{NH}_4^+$  nastaje uree koja se sintetizira u ciklusu uree (Stryer, 2013.). +S obzirom da je amonijak visoko toksičan, proces pretvorbe amonijaka u uree sprječava trovanje životinje amonijakom.

Osim o količini konzumiranog proteina, količina aminokiselina ovisi i o količinama proteina koji su nastali od strane mikroorganizama. Upravo u buragu mikroorganizmi stvaraju vlastite proteine iz amonijaka. Prilikom fermentativne razgradnje nastaje amonijak koji se veže na kratkolančane masne kiseline čime nastaju mikrobni proteini. Višak amonijaka, koji je ostao neiskorišten prilikom mikrobne probave, krvlju dolazi do jetre gdje se pretvara u ureu (Biswajit, 2011). Urea ulazi natrag u krv te se izlučuje mokraćom, slinom te se nalazi i u mlijeku. Kod preživača urea iz krvi može dospjeti ponovo u burag. Količina uree u mlijeku ovisi o količini energije i proteina koju životinja unosi hranom te odnosu unesenih razgradivih i nerazgradivih proteina u buragu. Svojom prisutnošću u mlijeku može nam uvelike pomoći pri procjeni metaboličkog statusa krave te nam ukazuje kakav je odnos proteina i energije u buragu. Višak ili manjak uree može utjecati na razne poremećaje koji utječu na životinju pa tako i na reproduktivna svojstva kao što je smanjenje plodnosti, ciste na jajnicima, izostanak tjeranja i sl.

### 2.3.3. Procjena metaboličkog statusa krava

Danas je važan čimbenik u mljekarstvu visoki prinos mlijeka koji donosi profit. Uslijed visoke proizvodnje važno je izbalansiranim prehranom osigurati zdravlje životinje osobito reproduktivno zdravlje životinje o kojem ovisi prinos mlijeka. Za izbalansiranu prehranu važno je znati odnos proteina i masti kako bi se mogla procijeniti energetska ravnoteža. Upravo uravnoteženi obrok ima veliku ulogu u zdravlju životinje te je važan posebno u vremenskom razdoblju kada je povećana proizvodnja mlijeka. Prilikom loše opskrbe krava energijom i proteinima javljaju se problemi s plodnošću, dislokacija sirišta, manja mliječnost i slično. Upravo iz razloga sprječavanja bolesti te višeg prinosa mlijeka

važno je poznavati odnose proteina i energije kako bi se ishrana prilagodila stanju u kojem se životinja nalazi.

Posljedice skromne prehrane dovodi životinju do niske opskrbe energijom i proteinima što uzrokuje razne probavne smetnje. Prilikom izbalansiranog obroka odnos proteina i energije je odgovarajući za zadovoljenje metaboličkih potreba životinje. Kod pothranjenih životinja smanjuje se proizvodnja mlijeka te mliječnost varira, a javlja se i problem s gravidnošću. Manjak proteina može se javiti kod jedinki visoke proizvodnje mlijeka od 1. do 5. mjeseca nakon poroda. Manjak proteina može utjecati na gubitak tjelesne mase te se mogu javiti i problemi s gravidnošću. U slučaju da je manjak proteina popraćeno nedostatkom energije, možemo ocijeniti da krava slabije konzumira hranu i crpi tjelesne rezerve masti. Ovakav odnos proteina i energije javlja se kod životinja visoke mliječnosti u prva 3 mjeseca laktacije te kod onih krava koje su u teljenje ušle ugojene. Osim opasnosti da životinja dobije ketozu, javljaju se reproduktivne smetnje te životinja teže ostaje gravidna (Glavić, 2013). Višak proteina u odnosu na energiju ukazuje da je obrok preobilan te može dovesti do gojenja što može uzrokovati probleme u narednoj laktaciji. Također uz višak proteina može se javiti višak energije što je također posljedica preobilnog obroka. Višak proteina i energije može se javiti na početku laktacije. Kod životinja koje se preobilno hrane proteinima javlja se manjak energije i višak proteina te postoji opasnost da će se životinja ugojiti što može dovesti do problema u narednoj laktaciji.

Metabolički status krava također se može ocijeniti na osnovi sadržaja uree i proteina u mlijeku. Odnos razgradivih i metaboličkih proteina utječe na sadržaj uree u mlijeku. Prema nekim istraživanjima upravo prehrana s viškom proteina može negativno utjecati na reproduktivna svojstva mliječnih krava uzrokujući smanjenu fertilnost (Jankowska, 2010). Prehrana viškom razgradivih proteina uzrokuje povišenu koncentraciju uree u krvi i mlijeku. Visoke koncentracije uree mijenjaju pH pa tako uzrokuju nepogodan okoliš za razvoj embrija te također mogu utjecati na smanjenu sposobnost preživljavanja spermija čime nastaje problem u koncepciji (Mitchell, 2004). Koncentracije uree u mlijeku i krvi su najpouzdaniji pokazatelj prilikom procjene metaboličkog statusa krava.

#### 2.3.4. Koncentracije uree i proteina u mlijeku

Na osnovu sadržaja proteina i uree u mlijeku moguće je procijeniti koliko su krave dobro opskrbljene energijom odnosno procjenjuje se njihov hranidbeni status. Prilikom ocjenjivanja opskrbljenosti krava važno je uzeti u obzir sadržaj mliječne masti, proteina, stadij



laktacije te nivo proizvodnje (Gantner, 2006). Na sadržaj uree u mlijeku utječu mnogi faktori kao što je mliječnost krave, njena masa, pasmina te stadij laktacije. Normalne vrijednosti uree u mlijeku kreću od 15 do 30mg/dl (Prpić, 2005, Jankowska, 2010) što nam govori da je sinteza mikrobnih proteina uspješna odnosno da su količine proteina u buragu dovoljne. Sadržaj uree u mlijeku najčešće je viši kod krava visoke mliječnosti nego kod krava niske mliječnosti. Višak uree ukazuje na prekomjeren unos proteina što utječe na zdravlje životinje dok manjak uree ukazuje da je unos proteina nizak čime se smanjuje proizvodnja mlijeka (Biswajit, 2011). Prilikom pojave viška amonijaka jetra se opterećuje njegovim pretvaranjem u ureu, osim toga životinja koristi previše energije. Jedan od najvećih problema viška uree u krvi i mlijeku javlja se u vidu reproduktivnih poremećaja (Glavić, 2013, Sawa i sur., 2011). Slaba opskrbljenost krava energijom i proteinima uzrokuje nizak sadržaj uree u mlijeku što dovodi i do smanjenje mliječnosti. Prema Jankowska i sur. (2010) s obzirom na opskrbljenost krava energijom i proteinima možemo ih svrstati u 9 grupa kao što je prikazano u tablici 1.

**Tablica 1. Odnos sadržaja uree i proteina**

Grupa	Proteini, %	Urea, mg l <sup>-1</sup>	Metabolički Status
1	<3,2	<150	E(-) P(-)
2	<3,2	150-300	E(-)
3	<3,2	>300	E(-) P(+)
4	3,2-3,6	<150	P(-)
5	3,2-3,6	150-300	Izbalansirano
6	3,2-3,6	>300	P(+)
7	>3,6	<150	E(+) P(-)
8	>3,6	150-300	E(+)
9	>3,6	>300	E(+) P(+)

Grupu broj 5 čine jedinke čija je prehrana dobro izbalansirana odnosno opskrbljenost proteinima i energijom je optimalna. Jedinke koje su slabo opskrbljene razgradivim proteinom pripadaju grupama 1, 4 i 6. U tablici 1. vidljivo je kako je koncentracija uree tih grupa manja od 150mg l<sup>-1</sup>. U grupama u kojima se javlja višak razgradivih proteina vidljiva je povećana koncentracija uree iznad 300 mg l<sup>-1</sup> te su jedinke s takvim koncentracijama smještene u 3,6 i 9 grupu. Prve 3 grupe predstavljaju jedinke kod kojih je vidljivo pomanjkanje energije.

Grupa 1: U ovoj grupi nalaze se jedinke čija je razina uree u mlijeku ispod  $150\text{mg l}^{-1}$  te je koncentracija proteina niža zbog slabe opskrbljenosti razgradivim proteinima. Kao što je prikazano u tablici 1. jedinka je slabo opskrbljena energijom i proteinima što uzrokuje na moguće metaboličke probleme, probavne smetnje te smanjenje otpornosti jedinke. U ovoj grupi najčešće se nalaze visokomliječne krave do 4 mjeseca nakon teljenja te one koje su pothranjene i bolesne (Glavić, 2013).

Grupa 2: U ovoj skupini nalaze se jedinke čija je koncentracije uree između  $150\text{--}300\text{mg l}^{-1}$  te je, kao što je vidljivo u tablici 1., prisutno pomanjkanje energije. U ovoj skupini također se nalaze jedinke čiji je obrok disbalansiran kao u grupi 1 s razlikom da se radi o jedinkama u svim stadijima laktacije.

Grupa 3: Ova grupa predstavlja jedinke s razinama uree iznad  $300\text{mg l}^{-1}$  te s manjkom energije (i viškom proteina). Sami sastav mlijeka ukazuje na dobru opskrbljenost proteinima i te energijom no postoji rizik da se jedinka ugoji što može uzrokovati probleme u narednoj laktaciji. Višak proteina i manjak energije uzrokuju povećane koncentracije uree u mlijeku i krvi što dovodi do mnogih poremećaja (Jankowska, 2010). Najčešće se u ovoj grupi nalaze krave >8. mjeseci laktacije no moguće je da se u ovu grupu smjeste i krave na početku laktacije kao posljedica intenzivnog iscrpljivanja tjelesnih rezervi nakon teljenja.

Grupa 4: Prema tablici 1. ovu grupu čine životinje čiji je sadržaj uree u mlijeku ispod  $150\text{mg l}^{-1}$  (proteini su u deficitu) dok se energija nalazi u blagom plusu. Najčešće se radi o jedinkama velike mliječnosti od 1 do 5 mjeseci nakon teljenja. Nedostatak proteina u ovog grupi ukazuje na slabu opskrbljenost energijom i proteinima te uzrokuje gubitak tjelesne mase i javljaju se problemi s gravidnošću (Glavić, 2013).

Grupa 6: Sastav mlijeka ove grupe ukazuje na dobru opskrbljenost energijom i proteinima. Javlja se višak proteina te povišene koncentracije uree iznad  $300\text{mg l}^{-1}$ . Ova grupa vrlo je slična grupi 3 te također postoji potencijalna opasnost da se jedinka udeblja ukoliko do vremena teljenja bude svrstana u ovoj grupi.

Grupa 7: Koncentracije uree u mlijeku u ovoj skupini nalaze se ispod razine od  $150\text{mg l}^{-1}$ . Kao što prikazuje tablica 1. vidljiv je višak energije i manjak proteina što znači da su jedinke

koje su u ovoj grupi, ušle predebele u teljenje. U ovoj skupini javlja se rizik da krave teže ostaju gravidne te im prijete pojava ketoze.

Grupa 8: U ovoj skupini nalaze se jedinke s optimalnim koncentracijama uree u mlijeku no javlja se višak energije. Optimalna razina proteina u mlijeku održava se opadanjem tjelesnih rezerva masti i proteina te se na taj način nastoji izbalansirati metabolizam. U ovoj skupini se nalaze jedinke koje su nakon teljenja ostale predebele te dolazi do slabljenja apetita. Zbog gubitka na težini može doći do problema s gravidnošću.

Grupa 9: Ova grupa obuhvaća jedinke čije su koncentracije uree u mlijeku iznad  $300\text{mg l}^{-1}$  te se javlja višak energije i proteina. Najčešće se radi o jedinkama koje imaju slabiju mliječnost. Krave su dobro opskrbljene sa energijom i proteinima no postoji rizik od ugojenosti što za vrijeme teljenja može stvoriti problem u narednoj laktaciji.

#### 2.4. POVEZANOSTI UREE U KRVI I MLJEKU S REPRODUKTIVNIM POREMEĆAJIMA

Na količinu uree u krvi i mlijeku utječe količina unesenih proteina u organizam životinje stoga prema količini uree u krvi i mlijeku možemo pratiti koliko je proteina u organizmu potrebno kako ne bi bilo štetno za zdravlje životinje. Povećane koncentracije proteina usko su povezane s visokom proizvodnjom mlijeka jer proizvodnja mlijeka raste s porastom koncentracija proteina (Biswajit i sur., 2011). Kao što je prethodno spomenuto, postoje mnogi pokazatelji plodnosti krava koji utječu na reproduktivni sustav, redovitost spolnog ciklusa, oplodnju jajne stanice, razvoj embrija i sl. (Caput, 1996). Postoje mnoga istraživanja koja nastoje povezati utjecaj proteina odnosno uree na reproduktivna svojstva životinja (Biswajit i sur., 2011., Butler, 2005., Jankowska i sur., 2010). Količina uree u mlijeku pod utjecajem je mnogih faktora kao što je mliječnost krave, njena masa, pasmina te stadij laktacije. Hranidba viškom proteina nesumnjivo utječe na povećane koncentracije uree (Grant, 2013). Normalne vrijednosti uree u mlijeku kreću od 15 do  $30\text{mg/dl}$  (Prpić, 2005, Jankowska, 2010) što nam govori da je sinteza mikrobnih proteina uspješna odnosno da su količine proteina u buragu dovoljne stoga je mjerenje njenih vrijednosti najbolji pokazatelj povezanosti proteina i reprodukcije. Prema Biswajit i sur. (2011) pretjerana hranidba krava sirovim proteinima uzrokuje reproduktivne poremećaje osobito u pogledu funkcije jajnika.

Nedostatak energije u prehrani odgađa povećane koncentracije LH zbog čega ne dolazi do stimulacije rasta folikula, proizvodnje estrogena te pojave ovulacije (Butler, 2012). Postoji više pretpostavki zašto hranidba viškom proteina utječe na smanjenu plodnost. Nusprodukti dušika nastalog razgradnjom proteina mogu utjecati na pH maternice i ravnotežu minerala u organizmu te mogu mijenjati izlučivanje gonadotropina i progesterona. Također se smatra da amonijak i urea mogu utjecati na smanjeni opstanak spermija, jajašca i embrija (Biswajit i sur., 2011) svojim utjecajem na reproduktivni sustav tijekom razvoja folikula, ovulacije, oplodnje te razvoja embrija (Sawa i sur., 2011).

#### 2.4.1. Utjecaj uree na plodnost

Prema Sawa i sur. (2011) povezanost koncentracija uree i plodnosti krava je statistički potvrđeno iako je ta korelacija slaba. Povećane koncentracije uree u krvi utjecale su na duže razdoblje do prvog osjemenjivanja te na servisno razdoblje, također je produžen broj dana od teljenja do koncepcije. Ovi rezultati bili su izraženi kod krava visoke proizvodnje mlijeka što je također pokazatelj kako visoko proteinska prehrana utječe na plodnost. Osim kod visoke proizvodnje mlijeka utjecaj uree na plodnost zabilježen je također na osnovi starosti krave te stadija laktacije. Slaba plodnost zabilježena je kod krava nakon 3. i 4. teljenja kao posljedica viška proteina u prehrani, a time i visokih koncentracija uree u krvi (Jankowska i sur., 2010). Prema Butler i sur. (1996) koncentracije uree iznad  $190 \text{ mg l}^{-1}$  utjecale su na smanjenje plodnosti za 18% kod mjerenja uree u krvi dok je kod uree u mlijeku u koncentracijama iznad  $190 \text{ mg l}^{-1}$  stopa plodnosti smanjenja za 21%.

#### 2.4.2. Utjecaj uree na pH maternice

Koncentracije iona u maternici od velike su važnosti za razvoj embrija stoga promjena pH maternice može stvoriti nepogodan okoliš za preživljavanje i razvoj embrija. Povišene koncentracije uree u krvi i u folikulima uočene su kod krava koje su hranjene visokim količinama proteina. Životinje hranjene viškom proteina imaju promijenjen pH maternice (Mitchell, 2004) što može biti povezano sa smanjenjem plodnosti krava. Povezanost promjene pH i visoke koncentracije uree kod krava je zabilježen za vrijeme lutealne faze ali ne i tokom estrusa (Biswajit i sur., 2011). Višak uree u tekućinama maternice povezan je s opskrbom sirovim proteinima (Jankowska i sur., 2010) te je povezano sa sekrecijom maternice čime negativno utječe na plodnost stvarajući nepovoljan okoliš za razvoj embrija (Butler, 2005).

Prema Amundson i sur. (2015), postoji povezanost koncentracija uree s unosom viška proteina no utjecaj na pH maternice nije uočen za vrijeme estrusa. Mnoga istraživanja potvrđuju utjecaj visokoproteinske hranidbe na promjenu pH tokom lutealne faze ali ne i tokom estrusa (Butler, 2005 i Elrod, 1993). Direktan utjecaj uree na sekreciju maternice te njen utjecaj na održavanje razine progesterona moguća su posljedica smanjene plodnosti krava (Butler, 2005).

#### 2.4.3. Utjecaj uree na ravnotežu hormona

Hormonalna ravnoteža od velike je važnosti za pravilan reproduktivni ciklus životinja. Jedan od važnijih hormona svakako je progesteron kojeg luči žuto tijelo te je važan za održavanje gravidnosti (Rupić, 2010). Visoke koncentracije uree, uslijed visokoproteinske hranidbe, utječu na smanjenje koncentracije progesterona tokom diestrusa te na taj način utječu na smanjenje plodnosti. Također kod negravidnih krava s niskim razinama progesterona zabilježena je visoka koncentracija uree u mlijeku (Biswajit i sur., 2011). Larson i sur. (1996) u svom su istraživanju uočili kako su koncentracije uree u mlijeku više kod negravidnih krava s niskim koncentracijama progesterona u odnosu na negravidne krave s visokim koncentracijama progesterona.

#### 2.4.4. Utjecaj uree na koncepciju

Krave s visokim koncentracijama uree u mlijeku pokazale su smanjenju mogućnost koncepcije u prvom estrusnom ciklusu. Visoke količine uree u mlijeku iznad  $190 \text{ mg l}^{-1}$  povezane su s manjom gravidnošću krava u odnosu na krave s nižim koncentracijama uree (Biswajit i sur. 2011). Rehak i sur. (2009) nisu našli značajnu vezu između koncentracija uree u mlijeku i prvog servisnog razdoblja iako su krave s nižim koncentracijama uree imale duži servisni period. Sličan zaključak donijeli su Melendez i sur. (2000) gdje nije uočena značajna korelacija između uree u mlijeku i neplodnosti, no uočena je razlika između visokih i niskih razina uree. Krave s višim razinama uree u mlijeku u ljetnim mjesecima pokazale su veći rizik od neplodnosti u odnosu na krave s niskim razinama uree u mlijeku koje su se telile u zimskim mjesecima.

#### 2.4.5. Utjecaj uree na razvoj embrija

Svaka promjena okoliša za embrio može uzrokovati probleme zbog promjene koncentracije važnih metabolita, iona koji omogućavaju lakši transport, oplodnju i sazrijevanje gameta (Biswajit, 2011). Loše izbalansirana prehrana može uzrokovati embrionalnu smrtnost (Caput, 1996) stoga je potrebno saznati uzroke koji na to utječu. S obzirom da je za razvoj embrija potreban prigodan okoliš u maternici, svaka promjena takvog okoliša može uzrokovati embrionalnu smrtnost. Promjene pH u maternici uzrokovane visokim koncentracijama uree u krvi stvaraju nepogodan okoliš za razvoj embrija. Iako postoji mnogo pretpostavki kako bi urea mogla utjecati na razvoj embrija, mnoga istraživanja i analize nisu došli do takvog zaključka (Biswajit, 2011 i Butler, 2005) stoga se utjecaj uree ne može direktno povezati s razvojem odnosno smrtnošću embrija.

### 3. MATERIJALI I METODE

Istraživanje je provedeno na farmi mliječnih krava Holstein pasmine na području Međimurske županije. U istraživanju je uključeno ukupno 56 krava u laktaciji. U 8 kontrola mliječnosti analizirano je ukupno 343 uzoraka mlijeka u kojima su analizirani sljedeći pokazatelji: dnevna količina mlijeka, mliječna mast, proteini, laktoza, broj somatskih stanica i koncentracija uree u mlijeku. Vrijednosti mliječne masti, proteina i laktoze izraženi su u postocima, dnevne količine mlijeka u kilogramima, a urea u mg/100ml. Za broj somatskih stanica u mlijeku izvršena je transformacija (log10) kako bi se dobila normalna distribucija vrijednosti. Uzorci mlijeka analizirani su u Središnjem laboratoriju za kontrolu kakvoće mlijeka pri Hrvatskoj poljoprivrednoj agenciji u Križevcima.

Podaci o reproduktivnim pokazateljima (pojava estrusa, reproduktivne smetnje, veterinarski pregled, liječenja, osjemenjivanja, kontrola graviditeta, datum teljenja) za svaku pojedinu životinju preuzeti su iz veterinarskog dnevnika na farmi te iz dijela kompjutorski vođene baze podataka same farme u koju se dnevno unose svi podaci vezani za reprodukciju krava (Dairy Plan REPR).

Za obradu podataka korišten je Windows Office Excel unutar Windows Office 2007 paketa te program za statističku analizu SAS 9.3. Za izračunu SAS 9.3. programu korištena je procedura za dobivanje deskriptivne statistike (PROC MEANS) za sve pokazatelje mlijeka po kontrolama. Također je korištena analiza varijance (PROC GLM) za testiranje razlika između kontrola za promatrane pokazatelje mlijeka. Za grafičke prikaze kretanja uree i grupa po kontrolama korištena je SAS procedura PROC SGPLOT dok je za grafički prikaz udjela grupa po kontrolama korišten Windows Office Excel 2007.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Podaci za ovo istraživanje prikupljeni su u osam mjesečnih kontrola mliječnosti provedenih u razdoblju od kolovoza 2013. do studenog 2014. godine. Pokazatelji koji su uključeni u mjerenje bili su dnevna količina mlijeka, sadržaj masti, proteina, laktoze i uree u mlijeku te broj somatskih stanica. Dnevna količina mlijeka izražena je u kg, vrijednosti sastava mliječne masti, proteina i laktoze su izražene u postocima (%) dok je sadržaj uree u mlijeku izražen u mg/100ml. Iz veterinarskog dnevnika kao i baze podataka farme u koju se unose sve dnevne promjene vezane za reproduktivne pokazatelje na samoj farmi (softver koji pomaže u planiranju reproduksijskih zahvata) preuzeti su podaci o reproduktivnom statusu krava (dana u laktaciji, pojava estrusa, vrijeme osjemenjivanja, kontrola graviditeta, zasušenje, datum teljenja). Temeljem navedenih reproduktivnih pokazatelja krave su svrstane u četiri skupine: slobodne - krave nakon teljenja do prvog osjemenjivanja, osjemenjene – krave nakon osjemenjivanja ali kod kojih nije još potvrđen graviditet, bređe – krave kod kojih je potvrđen graviditet, zasušene – krave u suhostaju.

### 4.1. ANALIZA VRIJEDNOSTI POKAZATELJA MLIJEKA PO KONTROLAMA

Ukupno je analizirano 56 jedinki u osam mjesečnih kontrola. Prosječan broj jedinki po kontroli varirao je između 35 i 47. Najmanji broj jedinki analiziran je u sedmoj i osmoj kontroli (35 jedinki), a najveći u četvrtoj i petoj kontroli (47 jedinki). Utvrđene vrijednosti sastava mlijeka po kontrolama prikazane su u tablicama 1. do 8.

**Tablica 2. Opisna statistika za promatrane vrijednosti sastava mlijeka u 1. kontroli (n=46)**

KONTROLA 1	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Minimum	Maksimum
mm_%	4,54	0,79	3,18	6,28
b_%	3,38	0,41	2,67	4,75
l_%	4,52	0,16	4,03	4,83
bss_c (log)	1,98	0,49	1,15	3,64
dkm_c	25,03	7,75	13,2	41,4
dkm_p	19,68	12,94	17,4	44,7
imb	1,35	0,25	0,98	2,35
Urea	44,8	7,44	31	59

mm\_% (mliječna mast), b\_% (bjelančevine), l\_% (laktoza), bss\_c (broj somatskih stanica), dkm\_c (dnevna količina mlijeka), dkm\_p (dnevna količina mlijeka u prethodnoj kontroli), imb (odnos sadržaja mliječne masti i bjelančevina)



U tablici 2. prikazani su podaci za prvu mjesečnu kontrolu gdje se nalazi ukupno 46 jedinki. Minimalne vrijednosti uree u prvoj kontroli su više od normalnih vrijednosti (44,8 mg/100 ml) koje se prema Jankowskoj (2010) kreću od 15-30mg/100ml. U prvoj kontroli vrijednosti uree kod svih jedinki su bile blago povišene što može ukazivati suvišak ukupnih proteina ili pak NPN u obroku krava uz istovremeni manjak energije. Navedeno potkrepljuje i činjenica da su zabilježene vrijednosti proteina iznosile prosječno 3,38%, dok je količina mliječne masti u isto vrijeme iznosila 4,54%. U ovom kontekstu visoki udio mliječne masti vjerojatno je posljedica mobilizacije i korištenja rezerva masti iz masnih depoa do kojeg dolazi u ranoj laktaciji kod visoko mliječnih krava. Navedeno potkrepljuje i porast prosječne proizvodnje mlijeka u odnosu na prethodnu kontrolu (25,03 vs. 19,68) odnosno ulazak novih krava u laktaciju.

U tablicama 3., 4., 5., 6. i 7. prikazane su vrijednosti pokazatelja mlijeka od 2. do 6. kontrole. Analizirani broj jedinki po kontrolama bio je između 43 i 47. Utvrđene vrijednosti uree od 2. do 4. kontrole blago su rasle, a zatim se prema 6. kontroli lagano smanjuju. U 2. kontroli vrijednosti uree su unutar uobičajenih vrijednosti te su u malom broju jedinki zabilježene vrijednosti koje odstupaju izvan uobičajenih. Srednje vrijednosti bjelančevina (3,39%) i uree (16,15 mg/100ml) u 2. kontroli ukazuju na dobru opskrbljenost proteinom i energijom u obroku krava.

**Tablica 3. Opisna statistika za promatrane vrijednosti sastava mlijeka u 2. kontroli (n=45)**

KONTROLA 2	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Minimum	Maksimum
mm_%	4,31	0,82	2,82	6,32
b_%	3,39	0,48	2,56	5,57
l_%	4,49	0,25	3,54	4,74
bss_c (log)	2,03	0,53	1,04	3,23
dkm_c	24,19	7,76	4,1	42,2
dkm_p	22,82	12,86	13,2	41,4
imb	1,28	0,24	0,85	1,89
Urea	16,15	6,47	7	43

mm\_% (mliječna mast), b\_% (bjelančevine), l\_% (laktoza), bss\_c (broj somatskih stanica), dkm\_c (dnevna količina mlijeka), dkm\_p (dnevna količina mlijeka u prethodnoj kontroli), imb (odnos sadržaja mliječne masti i bjelančevina)

**Tablica 4. Opisna statistika za promatrane vrijednosti sastava mlijeka u 3. kontroli (n=43)**

KONTROLA 3	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Minimum	Maksimum
mm_%	5,15	1,005	3,55	8,03
b_%	3,47	0,39	2,61	4,32
l_%	4,46	0,17	3,88	4,74
bss_c (log)	2,38	0,63	1,25	3,73
dkm_c	27,75	8,74	9,4	53,2
dkm_p	23,96	10,37	4,1	52,6
imb	1,49	0,33	1,05	2,54
Urea	18,69	5,76	7	34

mm\_% (mliječna mast), b\_% (bjelančevine), l\_% (laktaza), bss\_c (broj somatskih stanica), dkm\_c (dnevna količina mlijeka), dkm\_p (dnevna količina mlijeka u prethodnoj kontroli), imb (odnos sadržaja mliječne masti i bjelančevina)

**Tablica 5. Opisna statistika za promatrane vrijednosti sastava mlijeka u 4. kontroli (n=47)**

KONTROLA 4	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Minimum	Maksimum
mm_%	4,82	0,94	3,02	7,18
b_%	3,28	0,37	2,69	4,3
l_%	4,53	0,15	4,11	4,76
bss_c (log)	2,1	0,54	1,04	3,85
dkm_c	29,18	7,23	15,9	48,1
dkm_p	23,6	12,65	4,8	53,2
imb	1,47	0,29	0,87	2,03
Urea	20,11	5,86	9	34

mm\_% (mliječna mast), b\_% (bjelančevine), l\_% (laktaza), bss\_c (broj somatskih stanica), dkm\_c (dnevna količina mlijeka), dkm\_p (dnevna količina mlijeka u prethodnoj kontroli), imb (odnos sadržaja mliječne masti i bjelančevina)

U tablici 4. vidljivo je kako je srednja vrijednost mliječne masti u 3. kontroli viša u odnosu na ostale kontrole. Jednako tako relativno visoke vrijednosti mliječne masti zabilježene su i u 4. kontroli (4,85%). Razlog ovako visoke prosječne vrijednosti za mliječnu mast treba tražiti u činjenici da krave koje su ušle u laktaciju i za koje je karakterističan negativni energetske deficit u prvih 60 dana laktacije, mobiliziraju značajne količine energije iz masnih depoa kako bi podmirile povećane potrebe za energijom. U takvim uvjetima zbog visoke razine cirkulirajući slobodnih masnih kiselina u krvi, dolazi i do porasta razine mliječne masti u mlijeku. U prilog navedenom pokazuje i činjenica da je u 3., 4. i 5. kontroli zabilježena prosječno najveća mliječnost (27,75 kg/d; 29,18 kg/d i 30,72 kg/d) što znači da je u tim kontrolama bilo najviše svježe otepljenih krava.

Vrijednosti uree u 3. kontroli blago su porasle u odnosu na prvu i drugu kontrolu, no i dalje su ostale unutar poželjnih vrijednosti od 15-30mg/100ml. Blagi porast vrijednosti uree u mlijeku zabilježen je do 4. kontrole nakon čega razina uree blago pada prema 6. kontroli. Jednako tako i količina mliječne masti se smanjuje u 5. i 6. kontroli što se može pripisati povećanju prosječne dnevne količine mlijeka za koju je poznato da je u negativnoj korelaciji s mliječnošću. Isto tako u 5. kontroli, u kojoj su zabilježena najveća prosječna proizvodnja mlijeka (30,72 kg/d) utvrđene su i najmanje zabilježene vrijednosti bjelančevina u mlijeku (3,19%)

**Tablica 6. Opisna statistika za promatrane vrijednosti sastava mlijeka u 5. kontroli (n=47)**

KONTROLA 5	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Minimum	Maksimum
mm_%	4,6	1,36	3,19	6,83
b_%	3,19	0,75	2,8	4,31
l_%	4,44	0,95	4,34	4,95
bss_c (log)	1,99	0,54	1,11	3,16
dkm_c	30,72	7,49	17,9	47,4
dkm_p	31,39	7,96	17,5	47,4
imb	1,38	0,43	1,01	2,22
Urea	19,32	5,66	13	33

mm\_% (mliječna mast), b\_% (bjelančevine), l\_% (laktoza), bss\_c (broj somatskih stanica), dkm\_c (dnevna količina mlijeka), dkm\_p (dnevna količina mlijeka u prethodnoj kontroli), imb (odnos sadržaja mliječne masti i bjelančevina)

**Tablica 7. Opisna statistika za promatrane vrijednosti sastava mlijeka u 6. kontroli (n=45)**

KONTROLA 6	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Minimum	Maksimum
mm_%	4,31	0,83	2,82	6,32
b_%	3,39	0,48	2,65	5,57
l_%	4,49	0,25	3,54	4,74
bss_c (log)	2,03	0,53	1,04	3,23
dkm_c	24,19	7,75	4,1	42,2
dkm_p	22,82	12,86	13,2	41,4
imb	1,27	0,24	0,85	1,89
Urea	16,15	6,47	7	43

mm\_% (mliječna mast), b\_% (bjelančevine), l\_% (laktoza), bss\_c (broj somatskih stanica), dkm\_c (dnevna količina mlijeka), dkm\_p (dnevna količina mlijeka u prethodnoj kontroli), imb (odnos sadržaja mliječne masti i bjelančevina)

U 6. kontroli s padom prosječne količine proizvedenog mlijeka dolazi do ponovnog porasta razine bjelančevina u mlijeku dok se vrijednosti mliječne masti i uree zadržavaju unutar granica poželjnih vrijednosti (tablica 7).

**Tablica 8. Opisna statistika za promatrane vrijednosti sastava mlijeka u 7. kontroli (n=35)**

KONTROLA 7	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Minimum	Maksimum
mm_%	4,74	0,81	3,38	6,99
b_%	3,61	0,44	2,8	4,68
l_%	4,58	0,18	4,18	4,92
bss_c (log)	2,3	0,64	1,32	3,86
dkm_c	22,54	5,18	12,8	32,1
dkm_p	24,36	10,79	14	38,9
imb	1,29	0,18	0,97	1,69
Urea	28,43	6,25	17	47

mm\_% (mliječna mast), b\_% (bjelančevine), l\_% (laktoza), bss\_c (broj somatskih stanica), dkm\_c (dnevna količina mlijeka), dkm\_p (dnevna količina mlijeka u prethodnoj kontroli), imb (odnos sadržaja mliječne masti i bjelančevina)

**Tablica 2. Opisna statistika za promatrane vrijednosti sastava mlijeka u 8. kontroli (n=35)**

KONTROLA 8	Srednja vrijednost (Mean)	Standardna devijacija (sd)	Minimum	Maximum
mm_%	4,36	1,19	2,29	6,91
b_%	3,46	0,71	2,91	4,52
l_%	4,37	0,78	4,12	4,84
bss_c (log)	2,11	0,58	1,26	3,24
dkm_c	24,93	7,3	14,8	41
dkm_p	20,29	8,96	12,8	32,1
imb	1,24	0,33	0,78	2,15
Urea	14,71	4,75	7	25

mm\_% (mliječna mast), b\_% (bjelančevine), l\_% (laktoza), bss\_c (broj somatskih stanica), dkm\_c (dnevna količina mlijeka), dkm\_p (dnevna količina mlijeka u prethodnoj kontroli), imb (odnos sadržaja mliječne masti i bjelančevina)

Za razliku od ostalih kontrola, u 7. i 8. kontroli (tablica 8. i 9.) analiziran je nešto manji broj jedinki odnosno njih 35 u svakoj. Prosječne vrijednosti koncentracija uree u 7. kontroli (tablica 8.) bila je veća u odnosu na prethodnu kontrolu ali unutar normalnih vrijednosti. Unatoč tome kod nekih jedinki zabilježene su vrijednosti uree iznad gornjih preporučenih vrijednosti od 30 mg/100 ml.

**Tablica 10. Utjecaj kontrole na promatrane pokazatelje u mlijeku (LSM (SE))**

KONTROLA	mm_%	b_%	l_%	DKM_C	BSS_C (log)	UREA
1	4,45 (0,15)	3,38 (0,076)	4,52 (0,069)	25,03b (1,11)	1,98b (0,08)	44,80ad (0,91)
2	4,31b (0,15)	3,39 (0,077)	4,48 (0,069)	24,19bd (1,12)	2,027 (0,08)	15,15bdf (0,92)
3	5,14a (0,15)	3,47 (0,079)	4,46 (0,071)	27,75e (1,5)	2,38a (0,085)	18,7bd (0,94)
4	4,82 (0,14)	3,28 (0,076)	4,52 (0,068)	29,18c (1,1)	2,11 (0,082)	20,11bde (0,9)
5	4,6 (0,14)	3,19a (0,076)	4,44 (0,068)	30,72a (1,1)	1,99b (0,083)	19,32bd (0,9)
6	4,3b (0,15)	3,39 (0,077)	4,49 (0,069)	24,19bd (1,12)	2,02b (0,083)	16,16bdf (0,92)
7	4,7 (0,17)	3,61b (0,088)	4,5 (0,079)	22,54bdf (1,27)	2,3 (0,09)	28,43bcfg (1,04)
8	4,36b (0,167)	3,46 (0,088)	4,37 (0,078)	24,94b (1,27)	2,11 (0,09)	14,7bdfh (1,04)

mm\_% (mliječna mast); b\_% (bjelančevine); l\_% (laktoza); bss\_c (broj somatskih stanica); dkm\_c (dnevna količina mlijeka)

Vrijednosti označene različitim slovom se statistički razlikuju kod  $P < 0,05$ .

Zbirni prikaz svih kontrola za pokazatelje sastava mlijeka te razlike između kontrola prikazane su u tablici 10 (LSM i SE). Najmanja varijabilnost sastojaka mlijeka te nepostojanje razlika između kontrola zabilježena je za laktozu, što potvrđuje ranije navode iz literature kako je laktoza najmanje varijabilni sastojak mlijeka.

Koncentracije bjelančevina lagano variraju između kontrola, a značajna razlika u koncentracijama bjelančevina zabilježena je između 5. i 7. kontrole (3,19 vs. 3,69). Za koncentracije mliječne masti i broja somatskih stanica značajna razlika je zabilježena između 3. i 6. kontrole. U 3. kontroli ujedno su i zabilježene najviše vrijednosti za ova dva pokazatelja odnosno prosječne vrijednosti mliječne masti iznose 5,14 dok prosječne vrijednosti broja somatskih stanica u 3. kontroli iznose 2,38.

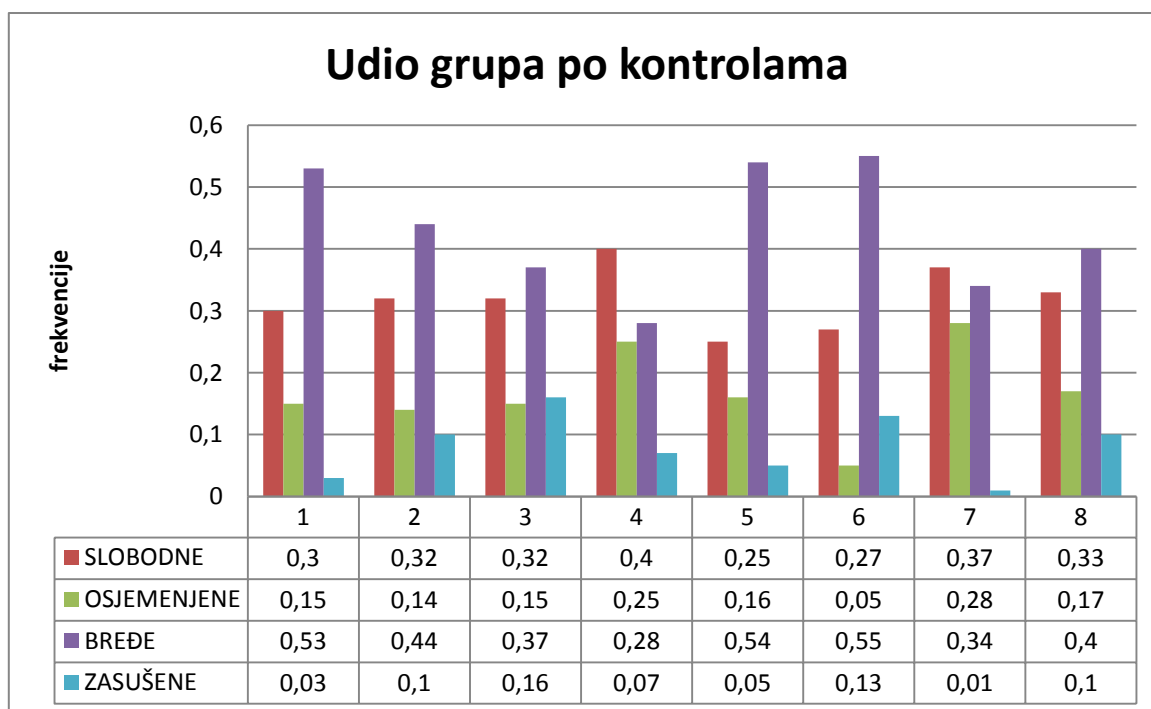
Najveća prosječna dnevna količina mlijeka zabilježena je u 5. kontroli i ona je iznosila preko 30 kg mlijeka po kravi dnevno. Značajno manja prosječna količina mlijeka izmjerena je u 7. kontroli ( $P < 0,05$ ) što je ujedno bila i najmanja izmjerena vrijednost u promatranom razdoblju. Najveće razlike između kontrola utvrđene su u koncentraciji uree u mlijeku što je ujedno bio i najvarijabilniji sastojak u mlijeku. Poznato je da količina uree u mlijeku uvelike ovisi o količini bjelančevina u obroku krava, njihovoj prirodi kao i količini raspoložive energije potrebne mikroorganizmima koji koriste bjelančevine (N) iz hrane za sintezu vlastitih

bjelančevina. Razloge velikoj varijabilnosti u koncentraciji uree u mlijeku između kontrola se može pripisati razlikama u sastavu obroka odnosno potrebama kod krava tijekom laktacije. Budući da su kontrole mliječnosti obuhvaćale gotovo čitavo razdoblje tijekom godine (sve sezone - kraj 2013. i 2014.) koristila su se i različita krmiva u hranidbi ovisno o sezoni. Pri tome se misli prvenstveno na upotrebu svježe pokošene trave i DTS u proljetnom i kasno jesenskom periodu, te upotreba pivskog tropa u jesensko-zimskom periodu. Navedeno, zbog visokog sadržaja N spojeva imalo je za posljedicu i nešto višu razinu uree u mlijeku (1. i 7. kontrola). Isto tako vrijednosti uree u mlijeku u 7. kontroli koje su bile blizu gornje granice, dijelom se mogu pripisati nerazmjeru između unosa i potreba za sintezu mlijeka (kontrola s najmanjom prosječnom dnevnom proizvodnjom mlijeka od 22,54 kg/dan). S druge pak strane, najniže vrijednosti uree u mlijeku koje su zabilježene u 8. kontroli (14,07 mg/100 ml) rezultat su prelaska na zimsku prehranu koja se temeljila na kukuruznoj silaži kao krmivu siromašnom SP uz dodatak gotove krmne smjese za mliječne krave, čime je i unos proteina bio značajno manji.

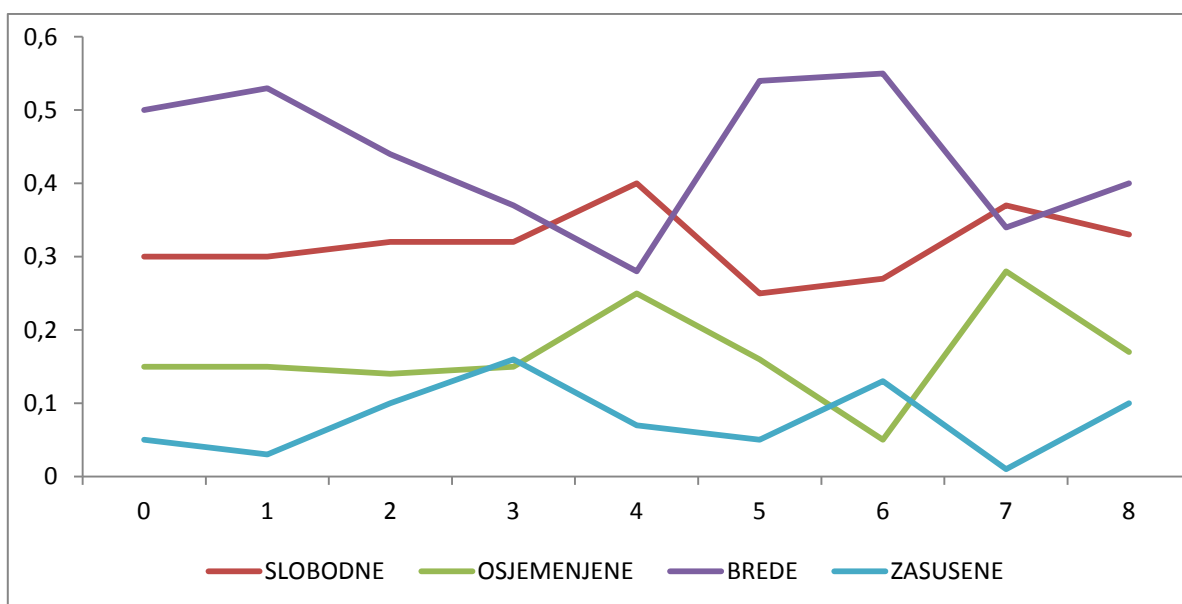
#### 4.2. ANALIZA VRIJEDNOSTI UREE S OBZIROM NA REPRODUKTIVNI STATUS KRAVA

S obzirom na reproduktivni status krave su podijeljene u četiri skupine: „slobodne“ – krave od trenutka teljenja do pojave prvog estrusa/osjemenjivanja; „osjemenjene“ – krave koje su osjemenjene i za koje nije sa sigurnošću potvrđen graviditet; „bređe“ – krave za koje je potvrđeno da su gravidne; „zasušene“ – krave u suhostaju.

Budući da se na farmi provodi protokol koji uključuje prvo osjemenjivanje unutar 80 dana nakon teljenja te trajanje suhostaja najmanje 60 dana, očekivano je da će biti nejednaki broj krava u pojedinim grupama. S obzirom na nejednak broj jedinki unutar svake grupe, izračunate su njihove frekvencije po kontrolama što je vidljivo u grafikonu 1. Prema očekivanju najmanji broj krava je u grupi zasušenih te osjemenjenih krava. Razlog ovome je da period suhostaja traje oko 60 dana kao i vrijeme od osjemenjivanja do sigurne potvrde graviditeta. Sukladno tome u konsolidiranim stadima može se očekivati udio ovakvih krava oko 15,0 %. Nadalje, najveći broj krava očekivano trebao bi biti u kategoriji bređih (oko 70%) dok u kategoriji slobodnih do najviše 20%. Udio krava po kategorijama te kretanje frekvencija grupa po kontrolama vidljivo je u grafikonu 1. i 2.



**Grafikon 1. Udio krava s obzirom na reproduktivni status po kontrolama**



**Grafikon 2. Promjene udjela krava s obzirom na reproduktivni status kroz promatrano razdoblje**

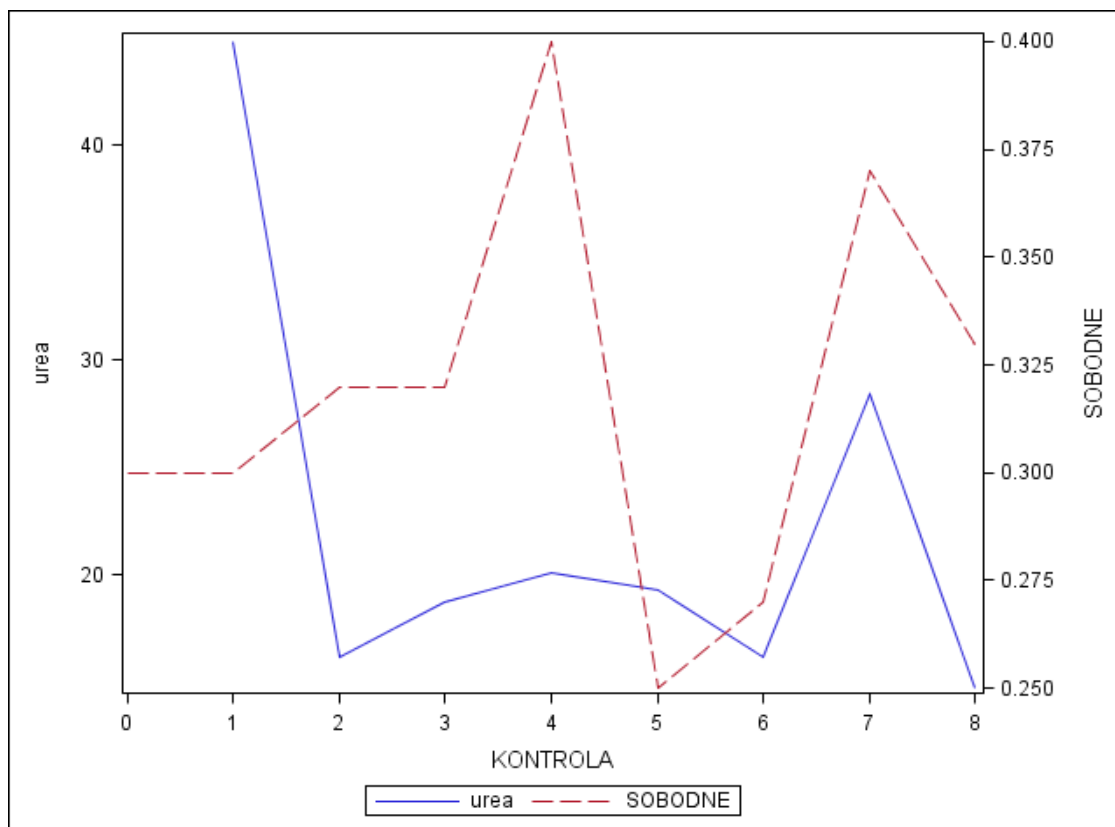
Analizirajući rezultate prikazane u grafikonu 1, vidljivo je značajno odstupanje od očekivanih frekvencija za pojedinu skupinu. To se prvenstveno odnosi na krave u skupini slobodnih krava čiji se udio kreće od 25% u 5. do 37% u 7. kontroli. Ovako visoki udio

slobodnih krava ukazuje nam da na predmetnoj farmi krave kasno ulaze u estrus odnosno prosječno vrijeme prvog osjemenjivanja je između 100 i 150 dana laktacije. Udio krava u skupini osjemenjenih nam ukazuje na uspješnost osjemenjivanja odnosno indirektno na zdravlje reproduktivnog sustava o kojem ovisi koliko dugo će se krave zadržavati u ovoj skupini. U slučaju zdravstvenih poremećaja (tiho gonjenje, izostanak ovulacije, subkliničke upale maternice, rana embrionalna smrtnost) biti će značajan broj krava u ovoj skupini. Rezultati ovog istraživanja potvrđuju veliku varijabilnost (5% u 6. do 28% u 7 kontroli). Vrlo malo osjemenjenih krava u 6. kontroli, a potom nagli skok u sljedećoj kontroli (7.) može se pripisati upotrebi sintetskih hormona i sinkronizaciji estrusa koja se uobičajeno provodi na velikim farmama u uvjetima izostanka estrusa.

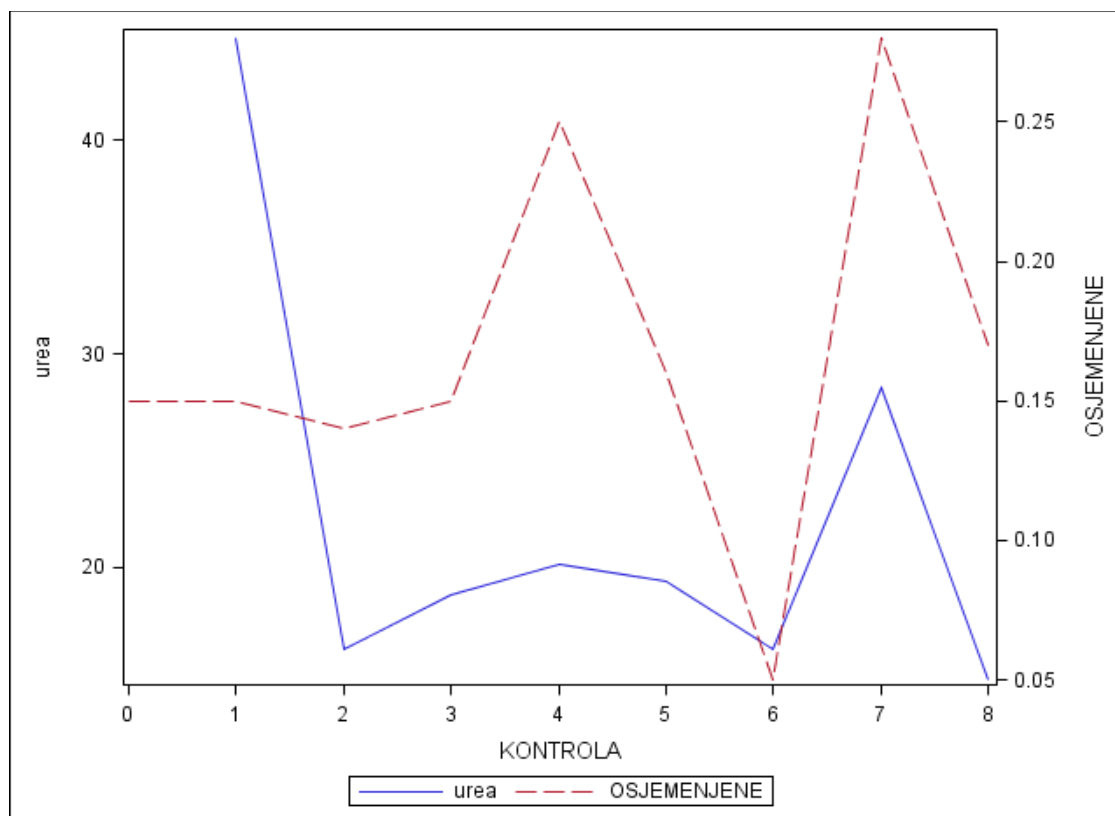
Udio krava u kategoriji bređih i zasušenih izravno ovisi o vremenu pojave prvog pravog estrusa i uspješnosti osjemenjivanja odnosno obrnuto je proporcionalan broju krava u kategoriji slobodnih i osjemenjenih. Upravo broj krava u kategoriji slobodnih te osjemenjenih (krave kod kojih nije sa sigurnošću potvrđen graviditet) u velikoj mjeri ovisi o zdravlju reproduktivnog sustava te opskrbe krava hranjivima sukladno potrebama u ranom stadiju laktacije te pojavi metaboličkih poremećaja. Jedan od važnih pokazatelja opskrbe krava hranjivima (energijom i proteinima) u toj proizvodnoj fazi je i koncentracija uree u mlijeku.

Poznato je da je povišena koncentracija uree u mlijeku pokazatelj njene povišene koncentracije u organizmu (krvi) i povezuje se pojavom većeg broja zdravstvenih poremećaja uključujući i one vezane za reprodukciju. Sinteza uree u jetri iz amonijaka metabolički je zahtjevan proces, troši puno energije što za krave u ranoj fazi laktacije još više produbljuje energetske deficit. Nadalje, visoka razina uree u krvi mijenja pH sluznice reproduktivnog sustava, čime se narušava uobičajena mikroflora i stvaraju nepovoljni uvjeti za prihvata i razvoj oplođene jajne stanice. Uz navedeno, smanjuje se i aktivnost spolnih žlijezda što ima za posljedicu pojavu prikrivenog spolnog ciklusa ili pak njegov potpuni izostanak. Jednako tako nedostatan unos bjelancevina hranom i posljedično niska razina uree u mlijeku može imati negativne posljedice na metabolizam i aktivnost spolnih organa. Stoga, razdoblje do pojave prvog estrusa i osjemenjivanja kao i od osjemenjivanja do sigurne potvrde graviditeta može biti uvelike pod utjecajem razine uree u mlijeku. Kretanje razine uree u mlijeku i udio krava u pojedinoj proizvodnoj fazi po kontrolama prikazan je u grafikonima 3. do 6.

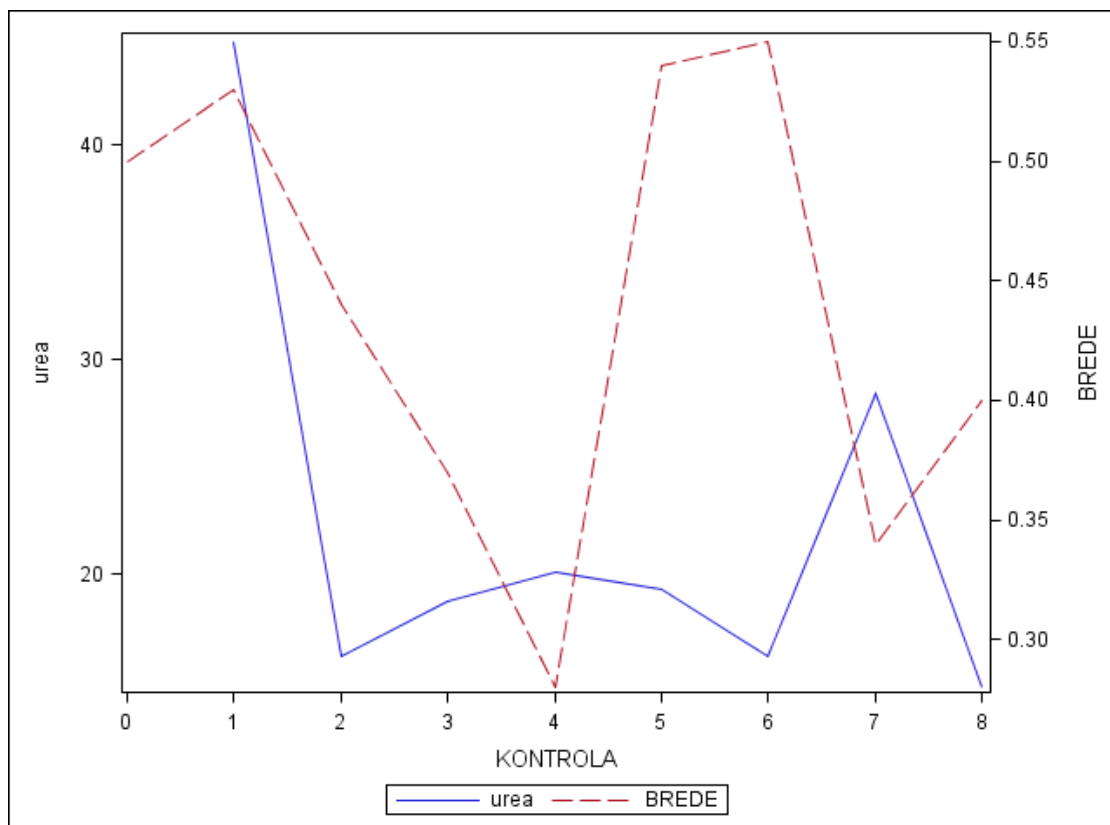




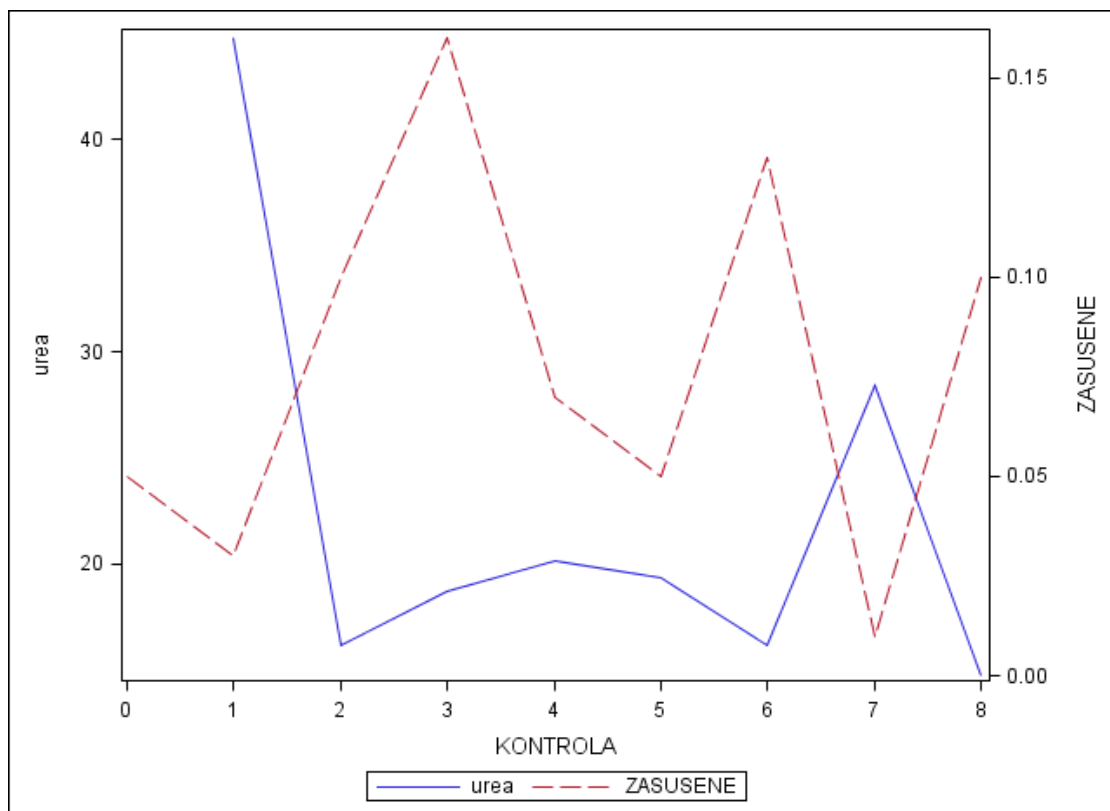
**Grafikon 3. Kretanje udjela slobodnih krava u kontrolnom razdoblju s obzirom na koncentracije uree u mlijeku**



**Grafikon 4. Kretanje udjela osjemenjenih krava u kontrolnom razdoblju s obzirom na koncentraciju uree u mlijeku**



**Grafikon 5. Kretanje udjela bređih krava u kontrolnom razdoblju s obzirom na koncentraciju uree u mlijeku**



**Grafikon 6. Kretanje udjela zasušenih krava u kontrolnom razdoblju s obzirom na koncentraciju uree u mlijeku**

Analizirajući rezultate u grafikonima 3. i 4. može se uočiti da trend kretanja udjela slobodnih i osjemenjenih krava (jalove) donekle prati trend kretanja razine uree u mlijeku. Izuzevši 1. kontrolu u kojoj su zabilježene najveće vrijednosti koncentracije uree u mlijeku ( $>40\text{mg}/100\text{ ml}$ ) možemo uočiti da se koncentracija uree povećava od 2. – 4. kontrole kada u isto vrijeme raste i udio jalovih krava (slobodne + osjemenjene) koji u 4. kontroli iznosi 65%. Jednako tako visoki udio jalovih krava zabilježen je i u 7. kontroli (65%) u kojoj je izmjerena koncentracija uree blizu gornje granice ( $28,43\text{ mg}/100\text{ ml}$ ). Promatrajući udio jalovih krava u odnosu na koncentraciju uree u mlijeku treba imati na umu da će posljedice njene prevelike količine ili manjak biti vidljiv s određenim vremenskim odmakom, odnosno simptomi metaboličkih i reproduktivnih poremećaja neće biti vidljivi odmah, već nakon par tjedana. Stoga se povećanje udjela jalovih krava u stadu može javiti tek u nekoj od sljedećih kontrola u odnosu na kontrolu kada su zabilježene promjene koncentracije uree u mlijeku. Nadalje, visoki udio slobodnih i osjemenjenih krava u stadu zabilježen u 4. kontroli može se pripisati dijelom i visokoj prosječnoj dnevnoj proizvodnji mlijeka u tom razdoblju ( $29,18\text{ kg}$ ) odnosno u prethodnoj ( $27,75\text{ kg}$ ) ili sljedećoj kontroli ( $30,72\text{ kg}$ ). Kod navedene razine proizvodnje dolazi vrlo često do pothranjivanja (energetskog deficita) što uvelike negativno utječe na reproduktivne pokazatelje.

Udio bređih kao i krava u suhostaju je obrnuto proporcionalan broju jalovih, odnosno s povećanjem njihova udjela smanjuje se udio jalovih krava u stadu. Stoga je i za očekivati da promjene u koncentraciji uree u mlijeku neće izravno utjecati na udio ovih kategorija krava već posredno preko duljine servis perioda (razdoblja od trenutka teljenja do koncepcije) odnosno udjela slobodnih i osjemenjenih krava u našem slučaju.

## 5. ZAKLJUČAK

1. Urea je jedan od najvarijabilnijih sastojaka mlijeka koji zajedno sa sadržajem bjelančevina odnosno njihovim odnosom prema sadržaju mliječne masti predstavlja dobar pokazatelj opskrbljenosti krava hranjivima. Navedeno nam omogućuje procjenu metaboličkog zdravlja krava te posljedično procjenu rizika od pojave reproduktivnih poremećaja. Stoga visoka ili niska razina uree u mlijeku kao pokazatelja opskrbljenosti krava bjelančevinama i energijom može biti povezana s većim brojem reproduktivnih poremećaja (izostanak tjeranja, tiho tjeranje, izostanak oplodnje, rana embrionalna smrtnost i dr.).
2. Analizirajući sadržaj uree u mlijeku kao i ostalih sastojaka mlijeka u ovom istraživanju može se uočiti značajna varijabilnost između pojedinih kontrola odnosno tijekom jedne proizvodne godine. Navedeno je posljedica korištenja sezonskih krmiva u većim količinama koja su često bogata lako topivim ili neproteinskim izvorima dušika koji se u prisustvu manjka energije izlučuje u obliku uree iz organizma. Navedeno objašnjava visoke razine uree u mlijeku zabilježene u 1. kontroli (iznad 30 mg/100 ml).
3. Raspodjela krava u skupinama s obzirom na reproduktivnu fazu (slobodne, osjemenjene, bređe i zasušene) pokazuje značajna odstupanja od očekivane raspodjele. Visoki udjeli krava u skupinama slobodnih i osjemenjenih ukazuju na dugo zadržavanje krava u ovoj reproduktivnoj fazi odnosno produljeno vrijeme do pojave prvog vidljivog estrusa ili oplodnje.
4. Utvrđene razine uree u mlijeku nisu značajno odstupale od normalnih vrijednosti za krave (15-30 mg/100 ml), izuzevši prvu kontrolu u kojoj su izmjerene vrijednosti daleko iznad gornje granice (44,8 mg/100 ml). U takvim uvjetima ne očekuje se utjecaj uree na učestalost pojave reproduktivnih poremećaja. Ipak može se uočiti da trend kretanja udjela slobodnih i osjemenjenih krava (jalove) donekle prati trend kretanja razine uree u mlijeku.

## 6. POPIS LITERATURE

1. Amudson, O.L., Larimore, E.L., McNeelm, A.K., Chase Jr., C.C., Cushman, R.A., Freetly, H.C., Perry, G.A., Uterine environment and pregnancy rate of heifers with high blood urea concentrations // BEEF, 3 (2015), 12-15
2. Biswajit, R. et al., Evaluation of Milk Urea Concentration as Useful Indicator for Dairy Herd Management: A Review. // Asian Journal of Animal and Veterinary Advances 6, 1 (2011), 1-19.
3. Butler, W.R., Calaman, J.J., Beam, S.W., Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle // Journal of animal science 74, (1996), 858-865
4. Butler, W.R., Relationship of dietary protein and fertility // Advances in Dairy Technology, 17 (2005), 159-168
5. Butler, W.R., The role of energy balance and metabolism on reproduction of dairy cows, 2012. URL: <http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/2012/7ButlerRNS2012a.pdf> (2015-11-20)
6. Caput, P., Govedarstvo. Zagreb: CELEBER d.o.o., 1996.
7. Elrod, C.C., Butler, W.R., Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein // Journal of animal science 71, 3 (1993), 694-701
8. Fricke, P.M. Shaver, R.D., Managing Reproductive Disorders in dairy Cows, 2000. URL: [http://www.ag.ndsu.nodak.edu/aginfo/dairy/Physiology/Managing%20Reproductive%20Disorders%20in%20Dairy%20Cows\\_files/Fricke%20disordersintro.htm](http://www.ag.ndsu.nodak.edu/aginfo/dairy/Physiology/Managing%20Reproductive%20Disorders%20in%20Dairy%20Cows_files/Fricke%20disordersintro.htm) (2015-11-10)
9. Fricke, P.M., Reproductive challenges of high production dairy cows, 2013. URL: <https://dysci.wisc.edu/wp-content/uploads/sites/40/2013/11/Fricke-Reproductive-Challenges.pdf> (2015-10-11)
10. Ganter V. i sur., Vrednovanje hranidbenog statusa mliječnih krava na osnovu sadržaja bjelančevina i uree u mlijeku // Stočarstvo 60, 1 (2006), 41-45.
11. Glavić, M. i sur., Upravljanje ishranom muznih krava pomoću rezultata mliječne kontrole, 2013.

12. Grant, J.K., Steichen, P.L., Wright, C.L., Vonnalune, K.A., Bauer, M.L., Jennings, J.S., Perry, G.A., Influence of nitrogen and sulfur intake on bovine uterine pH throughout the luteal phase // Journal of animal science 91, (2013), 1186-1192
13. Grubić, G., Adamović, M., Ishrana visokoproizvodnih krava, Beograd: 2003.
14. Jankowska, M.et.al, Effect of Milk urea and protein levels on fertility indices in cows // Journal of Central European Agriculture Vol 11 (2010), No 4.
15. Larson, S.F., Butler, W.R., Currie, W.B., Reduce fertility associated with low progesteron post breeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows // Journal od dairy science 80, (1996), 1288-1295
16. Melendez P., Donovan A., Hernandez J., Milk urea nitrogen and infertility in Florida Holstein cows // Journal of dairy science 83, 3 (2000), 459-463
17. Mitchel, Rissa G., Milk Urea Nitrogen Concetration: Heritability and Genetic Correlations with Reproductive Performance and Disease in Holstein Cattle. Master's Thesis, University of Tennessee, 2004. URL: [http://trace.tennessee.edu/utk\\_gradthes/2374/](http://trace.tennessee.edu/utk_gradthes/2374/) (2015-06-22)
18. Prpić, Z. i sur., Nehranidbeni čimbenici sadržaja uree u mlijeku // Stočarstvo 59, 3 (2005), 173-187.
19. Rehak,D. etal., Relationships between milk urea and production and fertility traits in Holstein dairy herds in the Czech Republic // Czech Journal Animal Science 54, 5 (2009), 193-200.
20. Rupiće, V., Zaštita zdravlja domaćih životinja: Fiziologija i patologija reprodukcije. Zagreb: Intergrafika TTŽ, 2010
21. Sawa A., Bogucki M., Krężel-Czopek S., Effectof some factors on relationship between milk urea levels and cow fertility //Archiv Tierzucht 54, 5 (2011),468-476
22. Stryer, L. etal., Biokemija. Zagreb: Školska knjiga, 2013.
23. Uremović, Z., Govedarstvo. Zagreb: Hrvatska mljekarska udruga, 2004.
24. Vuković, Dejan S., Kontrola reprodukcije krava visoke mliječnosti, primenom različitih hormonskih metoda indukcije estrusapost *partum*., Doktorska disertacija, Univezitet u Novom sadu, Poljoprivredni fakultet, 2012.